

Einfluß Monoaminoxydase
hemmender Substanzen
auf die Hyaluronidase-Aktivität

von

WOLFGANG REINDL

1960

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Einfluss Monoaminoxidase hemmender Substanzen auf die
Hyaluronidase-Aktivität

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Wolfgang Reindl
aus
Konstanz
München 1960



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555225_0064

Inhaltsverzeichnis

Problematik	5
Methodik	9
Eigene Versuche	10
Statistische Auswertung	15
Diskussion	32
Zusammenfassung	34
Literaturverzeichnis	35
Lebenslauf	38

Problematik

In mehreren Arbeiten haben M a t h i e s und Mitarbeiter¹⁻⁹ den Hyaluronidase hemmenden Effekt entsprechend wirksamer Substanzen als Nebennierenmarksfunktion mit Ausschüttung von Katecholaminen herausstellen können. Im Einzelnen haben die Versuche gezeigt, dass Hyaluronidase hemmende Stoffe (Salizylate, Phenylbutazon, Chloräthylbenzmetoxazon, Glucocorticoide, Moorbäder) einen Hyaluronidase hemmenden Effekt entfalten, der bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt, bei hypophysektomierten dagegen erhalten ist. Durch Bestimmung des Ascorbinsäuregehalts der Nebenniere, der einen Einblick in die Aktivität der Nebennierenrinde gestattet (S a y e r s und S a y e r s^{10,11}) konnten D o m e n j o z¹², M a t h i e s⁷, und J u n g¹³ feststellen, dass eine Stimulierung der Nebennierenrinde durch die genannten Hyaluronidase hemmenden Substanzen bei intakten Ratten gefunden wird, die bei hypophysektomierten Tieren dagegen nicht sichtbar gemacht werden kann. Da somit bei hypophysektomierten Tieren keine Nebennierenrinden-Aktivierung vorliegt, obwohl gleichzeitig der Hyaluronidase hemmende Effekt dieser Stoffe erhalten bleibt, kann eine über die Nebennierenrinde laufende Wirkung der Hyaluronidase hemmenden Stoffe nicht vorliegen. Da jedoch die Anwesenheit der Nebenniere für das Zustandekommen der Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität notwendig zu sein scheint, blieb eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung anzunehmen.

Diese Feststellung wird durch Untersuchungen von M a t h i e s und Mitarbeitern^{1,14,15} gestützt, nach denen die Nebennierenmark-Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin nach intravenöser Zufuhr nicht nur bei intakten, sondern auch bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung hervorrufen. Dieser Hyaluronidase hemmende Effekt tritt erst zu einem Zeitpunkt nach Katecholaminapplikation auf, zu dem die primäre, an der Pupillenweite registrierbare Katecholaminwirkung bereits abgeklungen ist. S c h l i e r f¹⁶ hat in seinen Untersuchungen zeigen können, dass während einer Adrenalindauerinfusion über zwei Stunden bei adrenaletomierten Ratten keine Hyaluronidase hemmende Wirkung sichtbar wird. Diese tritt vielmehr eben-

falls in gewissem Zeitabstand nach Absetzen der Infusion auf. Wenn aber im Verlauf der Adrenalindauerinfusion "Spitzen" einer kurzfristig höheren Adrenalindosis appliziert werden, ist im Anschluss an diese bereits während der Infusion eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität zu beobachten.

Aus diesen Versuchsergebnissen wird geschlossen, dass eine Hyaluronidasehemmung immer dann auftritt, wenn der Katecholaminblutspiegel nach vorheriger Erhöhung auf niedrigere Werte absinkt. Durch Untersuchungen von Mathies, Meckel, Eckelmann¹⁷, die diese mit Reserpin durchführten, konnte wahrscheinlich gemacht werden, dass auch das Absinken des Katecholaminblutspiegels unter das Normalniveau - also ohne vorherige Erhöhung - zu einer Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität führt. Damit kann als gesichert gelten, dass jeweils ein Absinken des Katecholaminblutspiegels von höheren auf niedrigere Werte eine Hyaluronidasehemmung bewirkt, wobei nur eine relative Niveaudifferenz, nicht aber die absolute Höhe massgebend ist.

Mathies, Poulantzas, Schmidt und Glück¹⁵ konnten zeigen, dass die Wirkung Hyaluronidase hemmender Substanzen und der Hyaluronidase hemmende Effekt des Adrenalins und Noradrenalins durch das Adrenolytikum Ergotamin aufgehoben wird. Desgleichen wurde nach Mathies und Mitarbeitern¹⁸ durch Ganglienblocker die Hyaluronidasehemmung entsprechender Substanzen nicht aber die des Adrenalins und Noradrenalins blockiert. Nach diesen Versuchsergebnissen war anzunehmen, dass Ganglienblocker, wie auch Eichholtz¹⁹ angibt, das Nebennierenmark blockieren, während die Adrenolytika die ausgeschütteten oder experimentell zugeführten Katecholamine in ihrer Wirkung aufheben oder umkehren. Dieses Verhalten konnte also auch am Beispiel der Hyaluronidasehemmung sichtbar gemacht werden.

In der vorgelegten Arbeit sollte nun in verschiedenen Versuchsanordnungen der Einfluss eines Monoaminoxidasehemmstoffes auf den Wirkungsmechanismus Hyaluronidase hemmender Substanzen untersucht werden.

Es ist bekannt, dass durch oxydative Decarboxylierung von verschiedenen Aminosäuren, beziehungsweise deren Verbindungen, im Organismus eine Reihe von ausserordentlich stoffwechsel-

wirksamen Substanzen gebildet wird²⁰. Diese Verbindungen, denen ganz allgemein stoffwechsel-katalysierende Funktionen zukommen, werden als biogene Amine bezeichnet. Zu den bislang am meisten bekannten und die Klinik hauptsächlich interessierenden biogenen Aminen gehören das Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) sowie die für die vorliegende Arbeit wichtigen Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin.

Der Abbau dieser biogenen Amine wird durch die Monoaminoxydase katalysiert. Stoffe also, die Monoaminoxydase zu blockieren vermögen, müssten die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin, indem sie sie vor dem oxydativen Abbau schützen, protrahieren.

Dieser durch Monoaminoxydasehemmung bewirkte Effekt lässt daher erwarten, dass die Höhe eines gleich wie zustande gekommenen Katecholamingehaltes über längere Zeit erhalten bliebe, oder zumindest langsamer abfiel, als das ohne die Blockierung der Monoaminoxydase der Fall wäre, deren oxydativ abbauende Wirkung sonst prompt zu beobachten ist.

Da von M a t h i e s und Mitarbeitern, wie einleitend dargelegt, gezeigt wurde, dass das Absinken eines Katecholaminblutspiegels von höheren auf niedrigere Werte eine Hyaluronidasehemmung bewirkt, könnte eine Blockierung der Monoaminoxydase, indem sie den Katecholaminabbau verhindert, somit auch einen durch Katecholaminabbau bedingten Hyaluronidase hemmenden Effekt verhindern, beziehungsweise zeitlich verzögern. Diese Überlegung gilt für den Fall, dass eine Monoaminoxydase hemmende Wirkung nicht nur im Gewebe sondern auch in der Blutbahn angenommen würde.

Für die im Folgenden beschriebenen Versuche wurde Iproniacid (Isopropyl-isonicotinsäurehydrazid, Marsilid) als Monoaminoxydasehemmstoff verwendet. Die Hemmung der Monoaminoxydase durch Iproniacid wurde zum ersten Mal 1952 von Zeller und B a r s k y²¹ beschrieben.

Seitdem wurden noch eine Reihe weiterer Monoaminoxydase hemmender Substanzen entdeckt. Als Standardmethode zur Messung ihrer Aktivität wird heute eine Versuchsanordnung mit der Warburg-Apparatur beschrieben²⁴. Sie beruht auf der manometrischen Registrierung der O₂-Aufnahme durch Gehirnhomogenate von ge-

wöhnlichen Ratten und solchen, die 20 Stunden vorher mit 100 mg Iproniacid/ kg Tier i.m. vorbehandelt wurden. Die als Eigenatmung bezeichnete O_2 -Aufnahme der Gehirnhomogenate beider Versuchsreihen zeigt zunächst keine nennenswerten Unterschiede. Fügt man jedoch den Homogenaten beider Reihen Serotonin oder Tyramin zu, so steigt bei der Normalreihe der O_2 -Verbrauch, während er bei der Iproniacid-Reihe nicht nur nicht erhöht wird, sondern sogar unter den Wert der Eigenatmung sinkt.

Offenbar hemmt das zugefügte biogene Amin eine andere Sauerstoff verbrauchende Reaktion des homogenisierten Gehirngewebes. Diese Reduzierung des O_2 -Verbrauchs wird nun bei der Normalreihe durch den mit der oxydativen Desaminierung des zugefügten biogenenamins verbundenen O_2 -Mehrverbrauch überdeckt. Sie tritt aber bei der Iproniacid-Reihe in Erscheinung, weil in diesen Homogenaten die oxydative Desaminierung des biogenenamins durch die Monoaminoxidase hemmende Wirkung des Iproniacid blockiert wird. Diese Versuchsanordnung ermöglicht damit indirekt eine Messung der Aktivität Monoaminoxidase hemmender Substanzen.

Ebenfalls im Sinne einer Monoaminoxidasehemmung werden verschiedene Einflüsse des Iproniacid auf die Barbituratnarkose und die Wirkung des Reserpins interpretiert.

Bei der Beeinflussung der Barbituratnarkose durch Iproniacid werden zwei verschiedene Phasen beobachtet. F o u s t und B r o d i e²² sowie G o l d i n und Mitarbeiter²³ fanden, dass Iproniacidgaben 1/2 bis 3 Stunden vor einer Evipannarkose bei Mäusen die Barbituratwirkung deutlich potenziert. (Die gleiche Beobachtung wurde auch bei den unten beschriebenen eigenen Versuchen gemacht). Die genannten Autoren erklären diese Tatsache damit, dass Iproniacid in der Leber barbituratabbauende Fermente hemmt. Gibt man jedoch die gleichen Iproniacid Dosen 22 bis 24 Stunden vor einer Evipannarkose, so tritt im Gegenteil eine Verkürzung der Narkosedauer auf²⁴. Dieser Effekt wird in Übereinstimmung mit den oben angeführten Untersuchungsergebnissen dahingehend interpretiert, dass Iproniacid nach dieser Zeit durch Hemmung der Gehirn-Monoaminoxidase den Abbau des stimulierenden Serotonins im Gehirn verhindert.

Der erwiesene stimulierende Effekt des Iproniacid und anderer Monoaminoxidase hemmender Substanzen fand eine klinische Anwendung in der Behandlung depressiver Patienten²⁵. Zusammenfassendes lässt sich jedoch über den Wert dieser Therapie heute noch nicht sagen.

Vorbehandlung mit Iproniacid vermindert im Tierversuch nicht nur die sedativen Wirkungen des Reserpins, sondern ruft sogar Erregungszustände hervor.²⁶ Reserpinverabfolgung bewirkt im Gehirn eine Ausschüttung des stimulierenden Serotonins, welches aber, einmal freigesetzt, sehr schnell durch die Monoaminoxidase abgebaut wird. Iproniacidvorbehandlung dagegen blockiert diesen Abbau durch Hemmung der Monoaminoxidase und stabilisiert somit das freigesetzte Serotonin im Sinne einer zentralnervösen Erregung.

Ähnliche Untersuchungen²⁷ über den Einfluss von Iproniacid auf die durch Reserpin erzeugte Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark führten mutatis mutandis zu den gleichen Ergebnissen. Es wurde bei diesen Versuchen histochemisch nachgewiesen, dass Iproniacid auf Grund des oben beschriebenen Wirkungsmechanismus die durch Reserpin bewirkte Katecholaminverarmung des Nebennierenmarkes verhindert. Dieser Effekt war auch noch nach Verabfolgung subletaler Reserpin Dosen zu beobachten, was für die starke Monoaminoxidase hemmende Aktivität des Iproniacid spricht.

Gerade in Hinblick auf diese bereits vorliegenden Untersuchungsergebnisse über die Beeinflussung der Nebennierenmark-katecholamine durch Monoaminoxidase hemmende Stoffe erscheinen Untersuchungen über die Wirkung dieser Stoffe auf die Hyaluronidase-Aktivität interessant.

Methodik

Für die Versuch wurden männliche, weisse Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 180 bis 200 g verwendet. Die Bauchhaut der Tiere wurde zunächst mit einer Schere vorrasiert und danach mit Pilca vollständig enthaart. Die Versuch wurden in einer Evipannarkose von 30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier s.c. durchgeführt. Die Wirkung der zu untersuchenden Substanzen auf die Hyaluronidase-Aktivität wurde an der Ausbreitung eines

Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddelpaares vor und je zwei weiteren zu verschiedenen Zeiten nach Applikation der betreffenden Substanzen ermittelt.

Sämtliche Quaddeln wurden mit jeweils 0,1ccm Lösung streng intracutan gesetzt. Für die reinen Farbstoffquaddeln fand eine 0,6% ige Evansblau-Lösung Verwendung. Für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln wurden in 2ccm der 0,6% igen Evansblau-Lösung 150 IE Hyaluronidase aufgelöst, sodass in einer Quaddel 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Nach jeweils 10 Minuten wurde die Ausbreitung der Quaddel markiert, auf einen Zelluloidstreifen übertragen und anschliessend planimetrisch ausgemessen. Die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zeigt gegenüber der reinen Farbstoffquaddel wegen der durch die Hyaluronidase bedingten höheren Gewebsspermeabilität eine schnellere Ausbreitung, die jedoch nach Applikation Hyaluronidase hemmender Substanzen weniger stark ausgeprägt ist. Diese somit sichtbar gemachte Verminderung der Hyaluronidase-Aktivität wird prozentual berechnet.

Eigene Versuche

1. Serie (6 Tiere)

Den Ratten wurde jeweils 10mg Iproniacid/100g Tier intramuskulär appliziert. Die Hyaluronidasehemmung wurde 15 und 45 Minuten post appl. bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

TABELLE 1 Normaltiere, 10mg Iproniacid/100g Tier i.m.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	15'	45'	vor	15'	45'
		nach			nach	Applikation
170g	138	120	116	176	150	100
210g	150	126	100	184	143	143
220g	128	105	100	195	125	100
220g	114	102	90	220	145	127
220g	122	124	127	167	120	130
180g	92	105	117	190	176	140
Hemmung:					62,0%	89,1%

2.Serie (6 Tiere)

Den Ratten wurde ebenfalls jeweils 10mg Iproniacid/100g Tier i.m. appliziert.Die Hyaluronidasehemmung wurde 30 und 60 Minuten post appl.bestimmt.Die Ergebnisse zeigt Tabelle 2.

TABELLE 2 Normaltiere,10mg Iproniacid/100g Tier i.m.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	30'	60'	vor	30'	60'
	nach			nach Applikation		
180g	143	134	130	222	142	162
170g	130	130	140	268	153	148
190g	140	142	135	205	134	145
210g	139	105	137	250	170	132
180g	130	127	120	230	138	150
190g	122	100	100	187	150	156
Hemmung:				80,0% 79,0%		

3.Serie (4 Tiere)

Die Ratten wurden adrenalectomiert.46 Stunden danach wurde den Tieren jeweils 10mg Iproniacid/100g Tier i.m.appliziert.Die Hyaluronidasehemmung wurde 30 und 60 Minuten nach Applikation des Iproniacid bestimmt.Die Ergebnisse zeigt Tabelle 3.

TABELLE 3 Adrenalectomierte Tiere,Iproniacid 10mg/100g 46 Std.
post adrenalect.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	30'	60'	vor	30'	60'
	nach			nach Iproniacidappl.		
210g	150	140	135	190	170	158
190g	140	120	115	175	170	172
220g	130	148	140	180	182	172
200g	143	142	140	210	185	170
Hemmung:				23,1% 39,9%		

4.Serie (5 Tiere)

Die Ratten erhielten 1 Gamma Adrenalin/100g Tier in die Femoralvene injiziert.(Dieser und der folgende Adrenalin-Leerversuch ohne Iproniacid wurden zum Vergleich für die Serien 6 und 7,Adrenalin+Iproniacid,unternommen).Die Hyaluronidasehemmung wurde 15 und 60 Minuten nach Applikation des Adrenalins bestimmt.Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4.

TABELLE 4 Normaltiere,Adrenalin 1Gamma/100g i.v.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	15'	60'	vor	15'	60'
		nach			nach Adrenalinappl.	
170g	170	175	170	210	190	180
200g	140	138	142	238	198	180
190g	154	130	132	229	180	175
180g	138	140	125	242	180	153
200g	150	160	142	224	191	160
Hemmung:	50,0% 72,3%					

5.Serie (5 Tiere)

Die Ratten erhielten 1 Gamma Adrenalin/100g Tier in die Femoralvene injiziert.Die Hyaluronidasehemmung wurde 30 und 90 Minuten nach Applikation des Adrenalins bestimmt.Die Ergebnisse zeigt Tabelle 5.

TABELLE 5 Normaltiere,Adrenalin 1Gamma/100g i.v.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	30'	90'	vor	30'	90'
		nach			nach Adrenalinappl.	
230g	145	140	129	210	198	135
200g	139	126	118	237	212	140
200g	153	155	140	230	205	152
200g	143	126	134	240	195	153
200g	145	140	119	235	207	162
Hemmung:	28,8% 87,6%					

6.Serie (4 Tiere)

Die Ratten wurden mit 10mg Iproniacid/100g Tier i.m.vorbehandelt.4 Stunden danach wurde ihnen 1 Gamma Adrenalin/100g Tier in die Femoralvene injiziert.Die Hyaluronidasehemmung wurde 15 und 120 Minuten nach Applikation des Adrenalins bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 6.

TABELLE 6 Normaltiere,Iproniacid 10mg/100g i.m.,4 Std.später Adrenalin 1 Gamma/100g i.v.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	15'	120'	vor	15'	120'
		nach			nach	Adrenalinappl.
190g	140	122	126	259	183	153
200g	135	125	129	225	194	146
180g	160	142	153	284	205	237
180g	154	137	128	271	268	240
Hemmung:	38,6% 53,8%					

7.Serie (4 Tiere)

Die Ratten wurden ebenfalls mit 10mg Iproniacid/100g Tier i.m. vorbehandelt.4 Stunden danach wurde ihnen 1 Gamma Adrenalin/100g Tier in die Femoralvene injiziert.Die Hyaluronidasehemmung wurde 60 und 90 Minuten nach Applikation des Adrenalins . bestimmt.Die Ergebnisse zeigt Tabelle 7.

TABELLE 7 Normaltiere,Iproniacid 10mg/100g i.m.,4 Std.später Adrenalin 1Gamma/100g i.v.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	60'	90'	vor	60'	90'
		nach			nach	Adrenalinappl.
210g	107	90	100	180	122	119
190g	120	110	92	180	125	116
180g	113	105	107	180	125	130
190g	106	105	110	240	140	135
Hemmung:	74,9% 78,2%					

8.Serie (4 Tiere)

Die Ratten erhielten 10mg Pendiomid (Ganglienblocker)/100g Tier in die Femoralvene injiziert.Und zwar wurden je 5mg 30 Minuten vor und 10 Minuten nach i.m.Applikation von 10mg Iproniacid/100g Tier gegeben.Die Hyaluronidasehemmung wurde 30 und 60 Minuten nach Applikation des Iproniacids bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 8.

TABELLE 8 Normaltiere, 10mg Pendiomid/100g zu je 5mg 30'vor und 10'nach Appl.von 10mg Iproniacid/100g.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	30'	60'	vor	30'	60'
		nach			nach Iproniacidappl.	
190g	150	159	148	248	214	198
200g	153	150	152	222	193	187
180g	160	145	135	241	230	195
200g	157	149	154	231	202	189
Hemmung:					30,5%	51,2%

9.Serie (4 Tiere)

Die Ratten erhielten 1,6mg Ergotamin (Adrenolytikum) /100g Tier subcutan verabfolgt.Und zwar wurden je 0,8mg 30 Minuten vor und 10 Minuten nach i.m.Applikation von 10mg Iproniacid/100g Tier gegeben.Die Hyaluronidasehemmung wurde 30 und 60 Minuten nach Applikation des Iproniacids bestimmt.Die Ergebnisse zeigt Tabelle 9.

TABELLE 9 Normaltiere, 1,6mg Ergotamin/100g zu je 0,8mg 30' vor und 10'nach Appl.von 10mg Iproniacid/100g.

Tiergew.	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel		
	vor	30'	60'	vor	30'	60'
		nach			nach Iproniacidappl.	
170g	160	170	162	245	197	206
200g	145	152	150	227	205	179
180g	144	132	144	226	200	173
210g	153	146	137	201	192	190
Hemmung:					34,9%	50,2%

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist es, die Gesamt-Variabilität der beobachteten Werte in zwei Hauptkomponenten zu zerlegen, und zwar in eine Komponente, die durch systematische Faktoren bedingt ist und eine andere Komponente, welche die experimentelle Variabilität darstellt. Diejenige Komponente der Gesamt-Variabilität, die durch systematische Faktoren bedingt ist, muss selber noch in so viele Komponenten zerlegt werden, als systematische Faktoren in dem betreffenden Versuch zu berücksichtigen sind.

Im Falle der vorliegenden Versuche muss prinzipiell mit zwei systematischen Faktoren gerechnet werden, nämlich einmal dem Einfluss des jeweiligen Versuchstieres und zum anderen dem Einfluss der jeweiligen Versuchszeit, zu der die Hyaluronidase-Aktivität bestimmt wurde. Die Erfahrung bei der Auswertung früherer Versuche, insbesondere bei der Auswertung methodischer Versuche hat gezeigt, dass man diesen systematischen Einflüssen am besten gerecht wird, wenn man der statistischen Auswertung ein *lineares Modell* zugrunde legt. Bezeichnet man einen Messwert, der an dem Versuchstier V zu dem Zeitpunkt t des Versuchs bestimmt wurde mit

$$x(V;t),$$

so wird bei diesem Modell angenommen, dass sich dieser Messwert in der nachstehenden Form darstellen lässt:

$$x(V;t) = a_V + b_t + \epsilon.$$

Die beiden Grössen a_V bzw. b_t dieses Ausdruckes sind hierbei konstante Parameter, die nur von dem jeweiligen Versuchstier bzw. nur von der jeweiligen Versuchszeit abhängen und ausserdem voneinander unabhängig sind. Diese beiden Parameter bringen den systematischen Einfluss des jeweiligen Versuchstieres bzw. der jeweiligen Versuchszeit auf den Messwert zum Ausdruck. Die Grösse ϵ dagegen ist der Ausdruck desjenigen Anteils der Variabilität der Messwerte, der durch zufällige Einflüsse bedingt ist und den wir weiterhin mit "experimentelle Variabilität" bezeichnen. Das angegebene Modell ist nur dann vollständig, wenn man über die Grösse ϵ gewisse Voraussetzungen macht.

Diese lauten dahingehend, dass ξ eine normale Zufallsvariable ist, mit dem Erfahrungswert 0 und einer Varianz σ^2 , die nur von der Versuchsanordnung, jedoch nicht von dem jeweiligen Versuchstier bzw. von der jeweiligen Versuchszeit abhängt.

Aufgabe der statistischen Auswertung ist es, nach Festlegung des statistischen Modelles, optimale Schätzungen für die Parameter, die in das Modell eingehen, und für die experimentelle Variabilität zu ermitteln. Dies geschieht im vorliegenden Falle nach der "Methode der kleinsten Quadrate", wobei die experimentelle Variabilität mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geschätzt wird. In den Varianz-Analysen ergibt sich diese Schätzung als Rest-Varianz.

Hinsichtlich der Schätzung der Parameter sei hier nur erwähnt, in welcher Weise die Parameter b_t , die zu den verschiedenen Zeitpunkten t des Versuches gehören, geschätzt werden. Es bedeutet hierzu $\bar{x}(t)$ das arithmetische Mittel aus allen Messwerten, die zu dem Zeitpunkt t an sämtlichen Versuchstieren einer Versuchsreihe beobachtet wurden. Bei passender Normierung der individuellen Konstanten a_v der einzelnen Versuchstiere, ist dann $\bar{x}(t)$ eine optimale Schätzung im Sinne der "Methode der kleinsten Quadrate" für den zum Zeitpunkt t gehörigen Parameter b_t . Innerhalb einer Versuchsreihe liegt eine Veränderung der Hyaluronidase-Aktivität bzw. der Diffusionsgeschwindigkeit einer Quaddel nur dann vor, wenn die zu verschiedenen Zeiten gehörigen Parameter b_t sich voneinander unterscheiden. Zur statistischen Prüfung der Frage, ob in einer Versuchsreihe eine solche Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeit vorliegt, war daher zu prüfen, ob die beobachteten Messwerte mit der Hypothese verträglich sind, dass die zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches gehörigen Parameter b_t untereinander gleich sind. Trifft dies nicht zu, so kann als statistisch gesichert gelten, dass während der Versuchsreihe eine Änderung der Diffusionsgeschwindigkeit aufgetreten ist.

Bei der vorliegenden Versuchsanordnung wird die oben genannte Hypothese am zweckmässigsten mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geprüft, wobei die "Varianz zwischen Versuchsstufen", die sich hierbei ergibt, ein Mass für die Abweichung des experimentell beobachteten Sachverhaltes von der zu prüfenden

Hypothese darstellt. Ist diese Varianz-Komponente statistisch gesichert grösser als die Schätzung der experimentellen Variabilität, die sogenannte Rest-Varianz, so ist die Prüfhypothese zu verwerfen, d.h. es liegt eine statistisch gesicherte Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeit des jeweiligen Quaddel-Typus vor.

Der anderen in der Varianz-Analyse auftretenden Varianz-Komponente "Varianz zwischen den Tieren" kommt unmittelbar für die vorliegende Fragestellung keine Bedeutung zu. Sie drückt lediglich aus, in welcher Weise sich das "individuelle Reaktionsniveau" der einzelnen Versuchstiere voneinander unterscheidet. Ist sie statistisch wesentlich grösser als die experimentelle Variabilität, so bedeutet dies, dass zu verschiedenen Versuchstieren verschiedene Parameter a_v gehören. Auf Grund des linearen Modells, kann der zu einem Versuchstier V gehörige Parameter a_v als das zu diesem Tier gehörige "individuelle Reaktionsniveau" gedeutet werden.

Liefert die Varianz-Analyse einen statistisch gesicherten Hinweis dafür, dass während einer Versuchsreihe eine Änderung in der Diffusionsgeschwindigkeit eingetreten ist, so folgt hieraus, dass mindestens zu einem Zeitpunkt nach Applikation der Prüfsubstanz die Diffusionsgeschwindigkeit sich gegenüber dem Ausgangswert statistisch gesichert verändert hat. Es ist dann zunächst zu prüfen, in welcher Richtung diese Veränderung gelaufen ist; ob eine Vergrösserung oder eine Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit stattgefunden hat. Die Richtung der Veränderung kann dadurch festgestellt werden, dass man die Differenz zwischen dem zum Zeitpunkt t gehörigen Parameter b_t und dem Parameter b_0 berechnet, der zum Ausgangswert gehört. Selbstverständlich lassen sich aus den Versuchen nur Schätzungen für diese Differenz ermitteln. Diese Schätzwerte stellen sich in der Form der Mittelwertsdifferenz
$$\bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$$

dar, wobei $\bar{x}(0)$ derjenige Mittelwert ist, der zu dem unbeeinflussten Ausgangswert gehört. Eine Hemmung der Diffusionsgeschwindigkeit zum Zeitpunkt t des Versuches gegenüber dem Ausgangswert liegt nur dann vor, wenn die zugehörige Mittelwertsdifferenz $\bar{x}(t)$ einen negativen Wert besitzt.

Bei allen denjenigen Versuchsreihen, bei denen die Varianz-Analyse eine gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit des jeweiligen Quaddel-Typus ergab, musste noch geprüft werden, ob sich diese Veränderung gleichmässig auf die beiden Zeitpunkte nach Applikation der Prüfsubstanz auswirkt und ob zwischen den beiden Quaddeln, die zu diesen Zeitpunkten gehören, selber Unterschiede bestehen. Dies geschieht mit Hilfe eines "orthogonalen Vergleiches", wobei zwei weitere Varianz-Komponenten berechnet werden, die selber insgesamt wieder die "Varianz zwischen Versuchsstufen" ergeben. Es handelt sich hierbei um die Varianz-Komponente "zwischen Kontrolle und Versuchsstufen" und die Varianz-Komponente "zwischen Versuchszeiten". Mit Hilfe der ersten dieser beiden Varianz-Komponenten wird geprüft, ob die Diffusionsgeschwindigkeit der beiden Quaddeln nach Applikation der Prüfsubstanz im Mittel sich von der Diffusionsgeschwindigkeit der Kontroll-Quaddel vor Applikation der Substanz unterscheiden. Diese Varianz-Komponente wird wiederum mit der experimentellen Variabilität, d.h. mit der Rest-Varianz verglichen; ist die Varianz-Komponente "zwischen Kontrolle und Versuchsstufen" gesichert grösser als die Rest-Varianz, so bedeutet dies, dass zu den beiden Zeitpunkten nach Applikation der Prüfsubstanz eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit vorliegt. Ist ausserdem die Varianz-Komponente "zwischen Versuchszeiten" gesichert grösser als die experimentelle Variabilität, d.h. die Rest-Varianz, so bedeutet dies, dass die Diffusionsgeschwindigkeit nach Applikation der Prüfsubstanz in der betreffenden Versuchsreihe ausserdem noch von dem Zeitpunkt ihrer Bestimmung abhängt.

Aus Gründen der experimentellen Technik konnten bei den vorliegenden Versuchen keine Doppelbestimmungen am gleichen Versuchstier zur gleichen Versuchszeit durchgeführt werden (auf Grund der beschränkten Grösse der Bauchhaut der Ratten); daher konnte die Richtigkeit des zugrunde gelegten statistischen Modells auch nicht unmittelbar mit Hilfe der vorliegenden Versuche geprüft werden. Dabei ist unter "Richtigkeit" eine angemessene Übereinstimmung zwischen den Werten, die auf Grund des statistischen Modells erwartet werden müssten und denjenigen

werten, die tatsächlich beobachtet worden sind, zu verstehen. Immerhin gibt es eine Möglichkeit zumindest abzuschätzen, ob das gewählte Modell vernünftig ist. Hierzu wählen wir folgenden Weg:

Die zum Zeitpunkt t einer Versuchsreihe an sämtlichen Versuchstieren gemessenen Werte weisen eine bestimmte Variabilität auf, als deren Mass wir die empirische Varianz $^2(t)$ dieser Messwerte ansahen. Wenn das gewählte statistische Modell den realen Sachverhalt in angemessener Weise wiedergibt, muss erwartet werden, dass die zu verschiedenen Zeiten gehörigen empirischen Varianzen $^2(t)$ alles Schätzwerte der gleichen übergeordneten Varianz sind, d.h. dass sie untereinander homogen sein müssen. Ob diese Annahme zutrifft, kann mit Hilfe des BARTLETT-Testes geprüft werden. Bei allen Versuchsreihen wurde daher auch der BARTLETT-Test durchgeführt. Es sei jedoch bemerkt, dass es sich hier mehr um eine Plausibilitäts-Betrachtung handelt als um einen exakten statistischen Test zur Prüfung der Richtigkeit des Modells.

Abschliessend sei bemerkt, dass die Auswertung der Ergebnisse für die reine Farbstoffquaddel und für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel getrennt vorgenommen wurde, da die Erfahrung gezeigt hat, dass sich die beiden Quaddel-Typen in unterschiedlicher Weise verhalten. Das zugrunde gelegte statistische Modell war jedoch in beiden Fällen das gleiche.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Das Ergebnis der durchgeführten Varianz-Analysen wurde in den Tabellen 10 bis 18 zusammengestellt. Es bedeutet in den Schemata der Varianz-Analysen:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das mittlere Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: der Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz);

p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-
Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Am Fuss jeder Varianz-Analyse ist das Ergebnis des BARTLETT-
Testes angegeben, den wir zur Prüfung der Übereinstimmung zwi-
schen dem gewählten Modell und dem realen Sachverhalt durch-
führten. Es bedeutet hierin n die Zahl der Freiheitsgrade der
Chi-Quadrat-Verteilung, welcher die Prüfgrösse $F_{\text{emp.}}$ genügt,
wenn die Hypothese zutrifft, dass die verglichenen Varianzen
 $\sigma^2(t)$ untereinander homogen seien.

Die Mittelwerte $\bar{x}(t)$ der zu jedem Zeitpunkt t an den Versuchs-
tieren beobachteten Werte, die empirischen Varianzen $\sigma^2(t)$ die-
ser Werte und die Mittelwertsdifferenzen $\bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$
finden sich in den Tabellen 19 bis 27. Soweit sich aus den Va-
rianz-Analysen ergeben hat, dass zwischen den Diffusionsge-
schwindigkeiten zu den verschiedenen Zeitpunkten einer Ver-
suchsreihe statistisch gesicherte Unterschiede vorliegen, ha-
ben wir in diesen Tabellen auch das Ergebnis des orthogonalen
Vergleiches angegeben. Hierzu wurde in der mit "Sicherung"
überschriebenen Spalte angeführt, mit welcher Irrtumswahrschein-
lichkeit behauptet werden kann, die betreffende Mittelwertsdif-
ferenz $\bar{x}(t)$ sei gesichert von 0 verschieden. Nur wenn diese
Irrtumswahrscheinlichkeit nicht grösser als 5% ist, kann be-
hauptet werden, dass zu dem betreffenden Zeitpunkt eine statis-
tisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit
des betreffenden Quaddel-Typus gegenüber dem Ausgangswert vor
der Applikation der Prüfsubstanz vorliegt. Eine ausreichende
statistische Sicherung für diese Behauptung ist allerdings
erst dann gegeben, wenn diese Irrtumswahrscheinlichkeit nicht
grösser als 1% ist. Schliesslich enthalten die Tabellen 19 bis
27 auch noch die in üblicher Weise errechnete prozentuale Hem-
mung für jeden Zeitpunkt des Versuches nach Applikation der
Prüfsubstanz.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Bei zwei Versuchsreihen, nämlich den Versuchsreihen 2 und 7,
besitzt für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel die Prüfgrösse

die kleiner als 5% ist. Es kann sich hier möglicherweise um einen Verteilungseffekt handeln, wie er notwendigerweise immer auftreten muss, wenn man viele Tests durchführt; andererseits fällt es auf, dass bei diesen beiden Versuchsreihen je ein Versuchstier auftritt, dessen Ausgangswert extrem von den übrigen Versuchstieren abweicht, während seine Werte nach Applikation der jeweiligen Prüfsubstanz durchaus mit denjenigen der übrigen Versuchstiere übereinstimmt. Eine Erklärung für dieses Phänomen haben wir allerdings nicht. Bei allen anderen Versuchsreihen liefert der BARTLETT-Test eine Prüfgrösse, deren Überschreitungswahrscheinlichkeit grösser als 5% ist, d.h. der BARTLETT-Test liefert in diesen Fällen keinerlei Hinweise dafür, dass das gewählte statistische Modell dem realen Sachverhalt entspreche.

Hinsichtlich des Verhaltens der reinen Farbstoffquaddel konnte nur in den Versuchsreihen 5 und 6 eine statistisch gesicherte Veränderung ihrer Diffusionsgeschwindigkeit im Ablauf des Versuches nachgewiesen werden. Wie sich aus dem Vorzeichen der Mittelwertsdifferenz $\bar{x}(t)$ für die reinen Farbstoffquaddeln dieser Versuchsreihen ergibt, handelt es sich hierbei um eine Verkleinerung der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoffquaddeln. Diese ist bei der Versuchsreihe 5 für 90' nach Adrenalinappl. statistisch hoch gesichert, bei der Versuchsreihe 6 ist sie zu beiden Zeitpunkten dieser Versuchsreihe hoch gesichert.

Bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel konnte bei den Normaltieren in sämtlichen Versuchsreihen eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit im Ablauf des Versuches nachgewiesen werden. Das Vorzeichen der Mittelwertsdifferenz $\bar{x}(t)$ zeigt an, dass es sich hierbei durchwegs um eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität gegenüber dem Wert vor Applikation der Prüfsubstanzen handelt. Die statistischen Sicherungen für diese Aussagen sind durchwegs sehr hoch, die Irrtumswahrscheinlichkeiten sind in keinem Falle grösser als 1%.

Im einzelnen ergibt sich zunächst aus den Versuchsreihen 1 und 2 dass Iproniacid die Hyaluronidase-Aktivität hemmt, und zwar liegt die maximale Hemmung im Bereich zwischen 30 und 45 Minuten. Aus der Versuchsreihe 8 ergibt sich, dass durch Appli-

kation von Pendiomid 30' vor bzw. 10' nach Iproniacid zwar die Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität durch Iproniacid nicht aufgehoben werden kann, allerdings ist in dieser Versuchsreihe die erreichte Hemmung wesentlich niedriger als in den Versuchsreihen 1 und 2. Eine entsprechende Aussage gilt auch für die Versuchsreihe 9, bei der 30' vor und 10' nach Iproniacid Ergotamin appliziert wurde. Die in den Versuchsreihen 8 und 9 erzielten Hemmungen zu den Zeitpunkten 30' und 60' nach Iproniacidappl. können als annähernd gleich angesehen werden.

Aus den Versuchsreihen 4 und 5 ergibt sich, dass auch bei Adrenalin eine Hyaluronidasehemmung auftritt, deren beobachtetes Maximum 90' nach Applikation liegt. Das Ergebnis der Versuchsreihen 6 und 7, insbesondere die Grösse der Mittelwertsdifferenz $\bar{x}(t)$ scheint darauf hinzudeuten, dass bei einer Applikation von Iproniacid 4 Stunden vor der Applikation von Adrenalin eine schwache Reduzierung der Hyaluronidase hemmenden Aktivität des Adrenalins eintritt; aus den vorliegenden Versuchen ergibt sich das jedoch nicht schlüssig.

Bei den adrenaletomierten Tieren, Versuchsreihe 3, konnte eine Hyaluronidasehemmung durch Iproniacid statistisch nicht nachgewiesen werden.

Es fällt auf, dass bei diesen Versuchen die Rest-Varianzen der Varianz-Analysen teilweise sehr gross sind, d.h. dass die Versuchsvariabilität sehr gross ist. Sehr deutlich äussert sich dieser Effekt bei den Versuchen, wo Adrenalin 4 Stunden nach Iproniacid appliziert wurde. Ob es sich hierbei um eine Eigenart von Iproniacid handelt und zwar in der Weise, dass die Reaktion der Versuchstiere sehr unterschiedlich auf diese Substanz ist, oder ob für dieses Vorkommnis andere Faktoren bestimmend waren, kann aus der statistischen Analyse nicht erschlossen werden.

TABELLE 10 Iproniacid 15' und 45' (zu Tabelle 1)
Farbstoffquaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1,735	347	1'91	-
Zwischen Stufen	2	761	380	2'09	-
Rest-Varianz	10	1,824	182		
Gesamt-Varianz	17	4,320	254		

n = 2; $\chi^2_{emp.} = 1,945$; 30% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2,568	514	1'77	-
Zwischen Stufen	2	13,464	6,732	23'13	0,1%
Zw.Kontrolle u.V.zeiten	1	12,284	12,284	42'21	0,1%
Zw.Versuchszeiten	1	1,180	1,180	4'06	-
Rest-Varianz	10	2,914	291		

Gesamt-Varianz

n = 2; $\chi^2_{emp.} = 0,025$; 98% p.

TABELLE 11 Iproniacid 30' und 60' (zu Tabelle 2)
Farbstoffquaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1,925	385	4'23	5%
Zwischen Stufen	2	372	186	2'04	-
Rest-Varianz	10	913	91		
Gesamt-Varianz	17	3,210	189		

n = 2; $\chi^2_{emp.} = 2,599$; 20% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1,803	361	-	-
Zwischen Stufen	2	24,757	12,379	31,82	0,1%
Zw.Kontrolle u.V.Zeiten	1	24,757	24,757	63,63	0,1%
Zw.Versuchszeiten	1	3	3	-	-
Rest-Varianz	10	3,894	389		

Gesamt-Varianz 17 30,454 1,791

$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 6,364; 2\% \text{ p.}$

TABELLE 12 Adrenalektomie, Iproniacid
Farbstoffquaddel

(zu Tabelle 3)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	579	193	2'33	-
Zwischen Stufen	2	138	69	-	-
Rest-Varianz	6	496	83		

Gesamt-Varianz

$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,451; 70\% \text{ p.}$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	502	167	1'85	-
Zwischen Stufen	2	868	434	4'82	-
Rest-Varianz	6	540	90		

Gesamt-Varianz

$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,539; 20\% \text{ p.}$

TABELLE 13 Adrenalin 15' und 60'

(zu Tabelle 4)

Farbstoffquaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	4	2,702	675	11,06	1%
Zwischen Stufen	2	185	92	1'51	-
Rest-Varianz	8	490	61		

Gesamt-Varianz 14 3,377 241

$n = 2$; $\frac{2}{emp.} = 0,542$; 70% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	4	394	98	-	
Zwischen Stufen	2	9,128	4,564	33'31	0,1%
Zw.Kontrolle u.V.zeiten	1	8,300	8,300	60'58	0,1%
Zw.Versuchszeiten	1	828	828	6'04	5%
Rest-Varianz	8	1,095	137		

Gesamt-Varianz 14 10,617 758

$n = 2$; $\frac{2}{emp.} = 1,068$; 50% p.

TABELLE 14 Adrenalin 30' und 90'

(zu Tabelle 5)

Farbstoffquaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	4	758	189	5'25	5%
Zwischen Stufen	2	725	363	10'08	1%
Zw.Kontrolle u.V.zeiten	1	504	504	14'00	1%
Zw.Versuchszeiten	1	221	221	6'14	5%
Rest-Varianz	8	291	36		

Gesamt-Varianz 14 1,774 127

$n = 2$; $\frac{2}{emp.} = 2,625$; 20% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	705	176	2,67	-
Zwischen Stufen	2	14,436	8,732	100'00	0,1%
Zw.Kontrolle u.V.Zeiten	1	9,901	9,901	100'00	0,1%
Zw.Versuchszeiten	1	7,562	7,562	100'00	0,1%
Rest-Varianz	8	527	66		

Gesamt-Varianz 14 18,695 1,335

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 1,316$; 50% p.

TABELLE 15 Iproniacid, Adrenalin 15' und 120' (zu Tabelle 6)
Farbstoffquaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1,000	333	11'89	1%
Zwischen Stufen	2	573	286	10'21	5%
Zw.Kontrolle u.V.Zeiten	1	561	561	20'03	1%
Zw.Versuchszeiten	1	12	12	-	
Rest-Varianz	6	170	28		

Gesamt-Varianz 11 1,743 158

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 0,252$; 80% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	10,537	3,512	5'72	5%
Zwischen Stufen	2	9,197	4,599	7'49	5%
Zw.Kontrolle u.V.Zeiten	1	8,513	8,513	13'86	1%
Zw.Versuchszeiten	1	684	684	1'11	-
Rest-Varianz	6	3,685	614		

Gesamt-Varianz 11 23,419 2,129

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 1,413$; 30% p.

TABELLE 16 Iproniacid, Adrenalin 60' und 90' (zu Tabelle 7)
Farbstoffquaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	168	56	-	
Zwischen Stufen	2	222	111	1'79	-
Rest-Varianz	6	375	62		

Gesamt-Varianz 11 765 70

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 0,279$; 80% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	2,039	680	3'72	-
Zwischen Stufen	2	12,531	6,266	34'24	0,1%
Zw.Kontrolle u.V.Zeiten	1	12,530	12,530	68'47	0,1%
Zw.Versuchszeiten	1	1	1		
Rest-Varianz	6	1,101	183		

Gesamt-Varianz 11 15,671 1,425

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 6,536$; 2% p.

TABELLE 17 Iproniacid, Pendiomid (zu Tabelle 8)
Farbstoffquaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	79	26	-	
Zwischen Stufen	2	120	60	1'20	-
Rest-Varianz	6	303	50		

Gesamt-Varianz 11 502 46

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 1,268$; 50% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	940	313	11'59	1%
Zwischen Stufen	2	3,786	1,893	70'11	0,1%
Zw.Kontrolle u.V.zeiten	1	3,174	3,174	100'00	0,1%
Zw.Versuchszeiten	1	612	612	22'67	1%
Rest-Varianz	6	297	27		

Gesamt-Varianz 11 5,023 457

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 3,267$; p = 10%

TABELLE 18 Iproniacid, Ergotamin
Farbstoffquaddel

(zu Tabelle 9)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	854	285	4'32	-
Zwischen Stufen	2	11	5	-	
Rest-Varianz	6	396	66		

Gesamt-Varianz 11 1,261 115

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 1,638$; 30% p.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	765	255	1'63	-
Zwischen Stufen	2	2,995	1,498	9'60	5%
Zw.Kontrolle u.V.zeiten	1	2,731	2,731	17'51	1%
Zw.Versuchszeiten	1	264	264	1'69	-
Rest-Varianz	6	935	156		

Gesamt-Varianz 11 4,695 427

n = 2; $\frac{2}{\text{emp.}} = 3,561$; 10% p.

TABELLE 19 Iproniacid 15' und 45'

(zu Tabelle 1)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	124	403			
H_v	189	335			
$E_{15'}$	114	117	- 10		
$H_{15'}$	143	399	- 46	62,0%	0,1%
$E_{45'}$	108	191	- 16		
$H_{45'}$	123	362	- 66	89,1%	0,1%

TABELLE 20 Iproniacid 30' und 60'

(zu Tabelle 2)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	134	64			
H_v	227	866			
$E_{30'}$	123	280	- 11		
$H_{30'}$	148	169	- 79	80,0%	0,1%
$E_{60'}$	127	224	- 7		
$H_{60'}$	149	105	- 78	79,0%	0,1%

TABELLE 21 Adrenalekt. Iproniacid

(zu Tabelle 3)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	141	69			
H_v	189	240			
$E_{30'}$	137	148	- 4		
$H_{30'}$	177	62	- 12	23,1%	0,1%
$E_{60'}$	132	142	- 9		
$H_{60'}$	168	45	- 21	39,9%	0,1%

TABELLE 22 Adrenalin 15' und 60'

(zu Tabelle 4)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	150	165			
H_v	229	159			
$E_{15'}$	149	340	- 1		
$H_{15'}$	188	60	- 41	50,0%	0,1%
$E_{60'}$	142	293	- 8		
$H_{60'}$	170	153	- 59	72,3%	0,1%

TABELLE 23 Adrenalin 30' und 90'

(zu Tabelle 5)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	145	26			
H_v	230	143			
$E_{30'}$	137	146	- 8		
$H_{30'}$	203	47	- 27	28,8%	0,1%
$E_{90'}$	128	90	- 17		
$H_{90'}$	148	117	- 82	87,6%	0,1%

TABELLE 24 Iproniacid, Adrenalin 15' und 120' (zu Tabelle 6)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	147	137			
H_v	260	641			
$E_{15'}$	131	91	- 16		1%
$H_{15'}$	212	1.450	- 48	38,6%	1%
$E_{120'}$	134	162	- 13		1%
$H_{120'}$	194	2.650	- 66	53,8%	1%

TABELLE 25 Iproniacid, Adrenalin 60' und 90' (zu Tabelle 7)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	111	41			
H_v	195	900			
$E_{60'}$	102	75	- 9		
$H_{60'}$	128	66	- 67	74,9%	0,1%
$E_{90'}$	102	64	- 9		
$H_{90'}$	125	81	- 70	78,2%	0,1%

TABELLE 26 Iproniacid, Pendiomid (zu Tabelle 8)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	155	19			
H_v	235	130			
$E_{30'}$	151	35	- 4		
$H_{30'}$	210	256	- 25	30,5%	0,1%
$E_{60'}$	147	73	- 8		
$H_{60'}$	192	26	- 43	51,2%	0,1%

TABELLE 27 Iproniacid, Ergotamin (zu Tabelle 9)

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Hemmung	Sicherung
E_v	150	56			
H_v	225	327			
$E_{30'}$	150	248	0		
$H_{30'}$	198	30	- 27	34,9%	1%
$E_{60'}$	148	112	- 2		
$H_{60'}$	187	210	- 38	50,2%	1%

Diskussion

Die Ergebnisse zeigen zunächst, dass die Monoaminoxydase hemmende Substanz Iproniacid eine Hemmung der Hyaluronidase - Aktivität hervorruft. Wenn man eine hemmende Wirkung des Iproniacid auf den Abbau der Blutkatecholamine annehmen will, so kann eine Hemmung der Hyaluronidase - Aktivität nur so erklärt werden, dass durch Hemmung des Katecholaminabbaues der normale Blutkatecholaminspiegel zunächst ansteigt, um später bei gleichbleibender Monoaminoxydase hemmender Wirkung und gleichzeitiger Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark wieder auf niedrigere Werte gegenüber dem Maximum abzufallen.

Ein solches Verhalten ist jedoch unwahrscheinlich, da bereits 15 Minuten nach Iproniacid - Applikation eine maximale Hemmung der Hyaluronidase - Aktivität nachgewiesen wurde. Ausserdem sprechen Versuchsergebnisse von R e s n i c k und Mitarbeitern²⁸ sowie F r i e n d und Mitarbeitern²⁹ gegen eine weitere Erhöhung des nach experimenteller Noradrenalinzufuhr erzielten Blutkatecholaminspiegels durch Monoaminoxydase hemmende Substanzen. Es ist vielmehr anzunehmen, dass die Monoaminoxydasehemmung eine gewöhnliche Reaktion darstellt, die von Z e l l e r und B a r s k y³⁰ sowie Z b i n d e n und S t u d e r²⁷ im Gehirn, der Leber und im Nebennierenmark am Beispiel von verschiedenen biogenen Aminen nachgewiesen wurde. P l e t s c h e r³¹ formuliert die Folgerung seiner Versuchsergebnisse so, dass die Hemmung der Monoaminoxydase durch Iproniacid eine Ansammlung der Katecholamine in den Organen bewirkt, jedoch deren Freisetzung hemmt und die Bindung an strukturelle Elemente in den Zellen verstärkt.

Es ist also möglich, dass durch Iproniacid - Applikation die laufende Freisetzung der Katecholamine aus dem Nebennierenmark in die Blutbahn gehemmt wird, sodass der normale Blutkatecholaminspiegel absinkt. Hierfür spricht auch der Befund, dass die Hyaluronidasehemmung des Iproniacid bei adrenaletomierten Ratten wesentlich geringer ist, sodass man eine Zu-

rückhaltung von Katecholaminen in sonstigem chromaffinen Gewebe annehmen kann. Nach Untersuchungen von Mathies¹⁴ und Schäufele³² reicht eine Niveaudifferenz von zwischen 0,5 und 1 Gamma Adrenalin oder Noradrenalin pro 100 g Ratte bereits aus, um eine maximale Hyaluronidasehemmung zu erzielen.

Die Hyaluronidase hemmende Wirkung des Adrenalins nach intravenöser Zufuhr wird durch Iproniacid nicht beeinflusst, besonders nicht in ihrem zeitlichen Auftreten. Dieses Versuchsergebnis deckt sich mit den Feststellungen von Balzer und Holtz²⁴, nach denen die Wirkung von zugeführtem Adrenalin auf die Nickhautkontraktion der Katze durch Iproniacid nicht beeinflusst wurde.

Ferner fanden Friend und Mitarbeiter²⁹ keine Veränderung des cardiovasculären Effektes und des Katecholaminblutspiegels nach Noradrenalingabe beim gesunden Menschen, wenn mit Iproniacid vorbehandelt worden war. Resnick²⁸ nimmt an, dass Iproniacidbehandlung die Monoaminoxidase - Aktivität zwar hemmt, ohne jedoch den cardiovasculären Effekt von Katecholaminen zu steigern und ohne den Blutkatecholaminspiegel ansteigen zu lassen.

Dass die Hyaluronidase hemmende Wirkung des Iproniacid durch einen Ganglienblocker oder ein Adrenolytikum nicht aufgehoben, wenn auch abgeschwächt wird, besagt, dass nicht wie bei anderen Hyaluronidase hemmenden Substanzen^{15,18} die Wirkung über eine Stimulierung des Nebennierenmarkes mit Ausschüttung von Katecholaminen erfolgt, nach deren Abbau der Blutkatecholaminspiegel wieder auf niedrigere Werte absinkt. Wie die Abschwächung der Hemmwirkung des Iproniacid durch Ganglienblocker und Adrenolytika zustande kommt, kann jedoch nicht eindeutig geklärt werden.

Untersuchungen von Mathies, Eckelmann und Meckel¹⁷ haben gezeigt, dass in dieser Beziehung ein ähnliches Verhalten auch bei Reserpin vorliegt. Auch beim Reserpin scheint der Blutkatecholaminspiegel, allerdings bei gleichzeitigem Absinken des Nebennierenmarkkatecholamingehaltes, ohne vorherigen Anstieg abzusinken.

Durch die gefundene Hyaluronidase hemmende Wirkung des Iproniacid wird auch die von S c h e r b e l und H a r r i s o n³³ beschriebene antirheumatische Wirkung dieses Stoffes in gewisser Weise erklärbar. Die Autoren beobachteten nach Applikation grösserer Dosen (150mg pro die) ein Abklingen der entzündlichen Gelenkerscheinungen, die allerdings nach Absetzen der Behandlung wieder auftraten. Mit anderen Monoaminoxidase hemmenden Substanzen wurden ähnliche Resultate erzielt. Auf die Bedeutung der Hyaluronidase hemmenden Substanzen in der Rheumatherapie hat M a t h i e s³⁴ eingehend hingewiesen.

Zusammenfassung

Es wurde mit einer auf dem Spreading - Effekt beruhenden Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddelmethode der Einfluss des Monoaminoxidase-Hemmstoffes Iproniacid auf die Hyaluronidase-Aktivität untersucht. Iproniacid hemmt das Hyaluronidasespreading, und dieser Effekt wird durch Adrenalektomie, einen Ganglienblocker und ein Adrenolytikum deutlich abgeschwächt. Die Hyaluronidase hemmende Wirkung des Adrenalins wird durch Iproniacid nicht beeinflusst. Im Hinblick auf bisher vorliegende pharmakologische Untersuchungen über die Wirkung des Iproniacid und auf die Kenntnis der Hyaluronidasehemmung als Katecholamineffekt wird die Hyaluronidase hemmende Wirkung des Iproniacid als Ausdruck einer Hemmung der Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies H. und Jankowski A.: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 2) Mathies H.: Arzneimittelfrsch. 8, 233 (1958)
- 3) Mathies H., Biechele I. und Hartmann M.: Ärztl. Frsch. 14,
I/160 (1960)
- 4) Mathies H. und Werther G.v.: Arzneimittelfrsch. 9, 576 (1959)
- 5) Mathies H.: Zschr. ges. exper. Med. 131, 118 (1959)
- 6) Mathies H. und Werther G.v.: Zschr. angew. Klimahlk. 5, 503
(1958)
- 7) Mathies H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
- 8) Mathies H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
- 9) Mathies H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 10) Sayers G. und Sayers M.: Endocrinologie 40, 256 (1947)
- 11) Sayers G. und Sayers M.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 50, 522 (1949)
- 12) Domenjoz R.: Arch. exper. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 13) Jung M.: Diss. München (1960)
- 14) Mathies H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 15) Mathies H., Glück A., Poulantzas J. und Schmidt D.: Med. exp.
1, 64 (1959)
- 16) Schlierf G.: Diss. München (1959)
- 17) Mathies H., Eckelmann R. und Meckel E.: in Vorber.
- 18) Mathies H., Oestreich G. und Schwalbach C.: in Vorber.
- 19) Eichholtz F.: Lehrb. Pharmacol., Verlag Springer Berlin-
Göttingen-Heidelberg (1957) 80
- 20) Leuthardt F.: Lehrb. physiol. Chem. Verlag Walter de Gruyter
13. Aufl. 390
- 21) Zeller E. und Barsky J.: Proc. Soc. exp. Biol. 81, 459-61 (1952)
- 22) Foust J. und Brodie B.: J. Pharmacol. 116, 480-85 (1956)
- 23) Goldin A. und Mtarb.: Science 121, 364-65 (1955)

- 24) Holtz P. und Balzer H.: Arch.exp.Pathol.u.Pharmakol.231,4,
333-48 (1957)
- 25) Frank J. und Ayd J.: Ann.N.Y.Acad.Sci.80,3,734-44 (1959)
- 26) Besendorf H. und Pletscher A.: Helvet.physiol.Acta 14,
383 (1956)
- 27) Zbinden G. und Studer A.: Experientia XIV,6 201-03 (1958)
- 28) Resnick O. u. Mitarb.: Ann.N.Y.Acad.Sci.80,3,820-29 (1959)
- 29) Friend D., Zileti M., Hamlin J. und Reutter F.: J.Clin.exp.
Psychopath.u.Rev.Psychiat.Neurol.19,2
Suppl.1,61 (zit.Resnick)
- 30) Zeller E. und Barsky J.: Proc.Soc.exp.Biol.81,459-61 (1952)
- 31) Pletscher A.: Experientia 14,73 (1958)
- 32) Scheufele R.: Diss.München (1958)
- 33) Scherbel A. und Harrison J.: Ann.N.Y.Acad.Sci.80,3,820-29
(1959)
- 34) Mathies H.: Med.Klin.52,1676 (1957)

Ich danke Herrn Professor Dr.W.Seitz für die Überlassung des Themas und Herrn Dr.H. Mathies für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und der schriftlichen Bearbeitung.Herrn Dipl.- Math.K.Liebrich danke ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen.Die Versuchssubstanz Iproniacid wurde freundlicherweise von der Firma Deutsche Hofman La Roche A.G.als Marsilid zur Verfügung gestellt.

Lebenslauf

Am 15. Januar 1932 wurde ich als erster von zwei Söhnen des Schriftstellers L.E.Reindl und seiner Ehefrau Edith, geborene Berger, in Magdeburg geboren.

Wenige Jahre später zogen meine Eltern nach Berlin, wo ich nach dem Besuch von vier Jahren Volksschule 1943 in das Friedenauer Gymnasium eintrat. Nachdem sich im gleichen Jahr die Luftangriffe auf Berlin immer mehr verstärkten, wurden die unteren Klassen der Schule in Kinder-Landverschickungs-Lager evakuiert. Die Zeit bis Kriegsende verbrachte ich in derartigen Lagern in Danzig, Chemnitz, Kamenz, Königgrätz und im Harz. Nach dem Krieg war ich zunächst in Braunschweig und besuchte dort ein Jahr lang das Wilhelm-Gymnasium. 1946 zogen wir nach Konstanz, wo mein Vater inzwischen an der Neugründung eines Verlages beteiligt war. Die Klassen Untertertia bis Oberprima besuchte ich am Heinrich Suso-Gymnasium in Konstanz, an dem ich 1951 die Reifeprüfung ablegte.

Nach anfänglichem Studium der Naturwissenschaften an der Ludwig-Maximilians-Universität in München begann ich im Sommersemester 1955 an der selben Universität mit dem Medizinstudium und bestand nach fünf vorklinischen Semestern die ärztliche Vorprüfung. Die klinischen Semester belegte ich ebenfalls in München und habe am 13.12.1960 die ärztliche Prüfung bestanden. Die mündliche Doktorprüfung fand am 20.12.1960 in München statt.



